

**AKTIVITAS ANTIBAKTERI DAN BIOAUTOGRAFI  
EKSTRAK ETANOL KULIT KAYU AKWAY (*Drymis piperita*  
Hook. f.) TERHADAP *Staphylococcus saprophyticus* DAN *Shigella*  
*sonnei***

**NASKAH PUBLIKASI**



**Oleh :**

**AMBAR RETNOWATI  
K100090071**

**FAKULTAS FARMASI  
UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH SURAKARTA  
2013**

## PENGESAHAN NASKAH PUBLIKASI

### AKTIVITAS ANTIBAKTERI DAN BIOAUTOGRAFI EKSTRAK ETANOL KULIT KAYU AKWAY (*Drymis piperita* Hook f.) TERHADAP *Staphylococcus saprophyticus* DAN *Shigella sonnei*

Oleh :  
**AMBAR RETNOWATI**  
K 100 090 071

Telah disetujui dan disahkan pada :

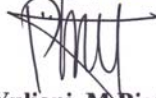
Hari :

Tanggal :

Mengetahui,  
Fakultas Farmasi  
Universitas Muhammadiyah Surakarta  
Dekan,

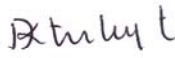
  
Dr. Muhammad Da'i, M.Si., Apt.

Penguji I



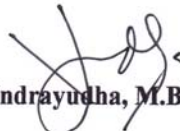
Ratna Yuliani, M.Biotech.St

Pembimbing Utama



Ika Trisharyanti DK, M.Farm., Apt

Penguji II



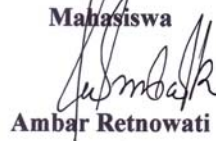
Peni Indrayudha, M.Biotech., Apt

Pembimbing Pendamping



Rima Munawaroh, M.Sc., Apt

Mahasiswa

  
Ambar Retnowati

**AKTIVITAS ANTIBAKTERI DAN BIOAUTOGRAFI EKSTRAK  
ETANOL KULIT KAYU AKWAY (*Drymis piperita* Hook. f.) TERHADAP  
*Staphylococcus saprophyticus* dan *Shigella sonnei***

**ANTIBACTERIAL ACTIVITY AND BIOAUTOGRAPHY OF  
ETHANOLIC EXTRACT OF AKWAY BARK (*Drymis piperita* Hook. f.)  
AGAINST *Staphylococcus saprophyticus* AND *Shigella sonnei***

**Ambar Retnowati\*, Ika Trisharyanti D. K., Rima Munawaroh**

Fakultas Farmasi, Universitas Muhammadiyah Surakarta,  
Jl A. Yani Tromol Pos I, Pabelan Kartasura Surakarta 57102

\*Email: metilen\_pink@yahoo.com

**ABSTRAK**

Akway (*Drymis piperita* Hook. f.) merupakan salah satu tanaman yang digunakan dalam menanggulangi masalah kesehatan. Berdasarkan hasil uji fitokimia dari tanaman akway, terdeteksi adanya tanin, saponin, terpen, alkaloid, flavonoid dan steroid. Ekstrak etanol dan ekstrak air dari daun dan kulit kayu akway dapat menghambat pertumbuhan *Escherichia coli* serta *Staphylococcus aureus*. Tujuan dari penelitian ini adalah mengetahui aktivitas antibakteri ekstrak etanol kulit kayu akway terhadap *Staphylococcus saprophyticus* dan *Shigella sonnei* dan mengetahui golongan senyawa yang terkandung dalam ekstrak etanol kulit kayu akway yang berpotensi sebagai antibakteri terhadap *Staphylococcus saprophyticus* dan *Shigella sonnei*.

Kulit kayu akway dimaserasi dengan etanol 96% sehingga diperoleh ekstrak etanol kulit kayu akway. Ekstrak diujikan kepada bakteri dengan metode dilusi padat dengan parameter Kadar Hambat Minimal (KHM) dan Kadar Bunuh Minimal (KBM). Analisis kualitatif dilakukan dengan Kromatografi Lapis Tipis. Penelitian dilanjutkan dengan uji bioautografi, senyawa yang mempunyai aktivitas antibakteri menghasilkan zona hambat pada media.

Hasil penelitian menunjukkan ekstrak etanol kulit kayu akway memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus saprophyticus* (KHM 4,5% dan KBM 5,5%) dan *Shigella sonnei* (KHM 5% dan KBM 5,5%). Golongan senyawa yang memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus saprophyticus* dan *Shigella sonnei* adalah fenol dan terpen (Rf pada KLT 0,8).

**Kata Kunci :** *Drymis piperita* Hook. f., Antibakteri, Bioautografi, *Staphylococcus saprophyticus*, *Shigella sonnei*

**ABSTRACT**

Akway (*Drymis piperita* Hook. f.) is one of the plants used in tackling health problems. Phytochemical study showed that akway contain tannins, saponins, terpenes, alkaloids, flavonoids and steroids. Ethanolic extract and water extract of the akway leaf and akway bark can inhibits *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* growth. The purpose of this study was to determine the antibacterial activity of the ethanolic extract of the akway bark against

*Staphylococcus saprophyticus* and *Shigella sonnei* and determine the chemical content that active as antibacterial agent.

Akway bark macerated with ethanol 96%. Antibacterial activity of the extract was tested with solid dilution method with Minimal Inhibitory Concentration (MIC) and Minimal Bactericidal Concentration (MBC) as the parameters. Qualitative analysis is performed by Thin Layer Chromatography (TLC). Study was continued with bioautography, antibacterial compounds produced inhibition zone in the medium.

The result showed the ethanolic extract of akway bark have activity against *Staphylococcus saprophyticus* (MIC 4,5% and MBC 5,5%) and *Shigella sonnei* (MIC 5% and MBC 5,5%). Chemical compounds that have antibacterial activity against *Staphylococcus saprophyticus* and *Shigella sonnei* are phenols and terpenes (Rf 0,8).

**Keywords:** *Drymis piperita* Hook. f., Antibacterial, Bioautography, *Staphylococcus saprophyticus*, *Shigella sonnei*.

## PENDAHULUAN

Penyakit infeksi merupakan salah satu penyakit yang menjadi masalah kesehatan terbesar di Indonesia. Infeksi dapat terjadi karena adanya mikroba (contohnya kapang, fungi, bakteri, protozoa, clamidia dan virus) atau parasit (Rostinawati, 2010). Beberapa bakteri yang banyak menyebabkan penyakit antara lain *Staphylococcus saprophyticus* dan *Shigella sonnei*.

*Staphylococcus saprophyticus* merupakan bakteri Gram positif yang dapat menyebabkan *peritonitis* (Jamil *et al.*, 2009) dan juga infeksi saluran kemih (Nurokhim, 2001). *Peritonitis* merupakan jenis penyakit yang angka mortalitas dan morbiditasnya cukup tinggi (Jamil *et al.*, 2009). Sedangkan infeksi saluran kemih merupakan penyakit yang kerap ditemui dan dapat mengganggu produktivitas (Nurokhim, 2001).

*Shigella sonnei* adalah suatu bakteri Gram negatif yang menjadi salah satu agen patogenik utama penyebab dari penyakit *shigellosis* (Angelini *et al.*, 2009). *Shigellosis* termasuk salah satu jenis penyakit infeksi yang serius. Setiap tahun *shigellosis* menyebabkan kematian sejumlah 600.000 orang (Sur *et al.*, 2004).

Tanaman obat adalah salah satu dari kekayaan alam Indonesia yang sangat layak untuk dikembangkan dalam penemuan obat baru (Sugiharto & Mardiasuti, 2005). Pemanfaatan tanaman obat dinilai lebih aman karena efek samping yang ditimbulkan relatif lebih sedikit (Sari, 2006). Salah satu tanaman yang digunakan dalam menanggulangi masalah kesehatan adalah akway (*Drymis sp.*).

Akway (*Drymis sp.*) oleh suku Sougb dari kampung Sururey, Manokwari, digunakan untuk mengobati malaria dan meningkatkan vitalitas tubuh (Cepeda *et al.*, 2011). Selain itu tanaman ini juga dimanfaatkan oleh penduduk setempat sebagai obat kudis sehingga kemungkinan dalam tanaman ini terkandung senyawa kimia yang berpotensi sebagai antibakteri. Ekstrak etanol dan ekstrak air dari daun dan kulit kayu akway (*Drymis piperita* Hook. f.) dapat menghambat pertumbuhan *E. coli* serta *S. aureus* (Ismunandar, 2008). Berdasarkan hasil uji fitokimia dari tanaman akway (*Drymis piperita* Hook. f.), terdeteksi adanya tanin, saponin, alkaloid dan flavonoid yang diketahui memiliki aktivitas sebagai antibakteri (Pladio & Villasenor, 2004).

Akan bermanfaat bila dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui aktivitas antibakteri dari ekstrak etanol kulit kayu akway terhadap *Staphylococcus saprophyticus* dan *Shigella sonnei*, serta mengetahui golongan senyawa aktif yang berperan menghambat pertumbuhan *Staphylococcus saprophyticus* dan *Shigella sonnei* melalui uji bioautografi.

## **METODE PENELITIAN**

### **Alat**

Alat gelas (pyrex), alat timbang (Ohaus), *blender* (Miyako), *vacuum rotary evaporator* (Heidolph), lampu spiritus (Bunsen), mikropipet (Socorex), *autoclave* (My Life), *shaker incubator* (New Brunswick), oven (Mettler), *Laminar Air Flow* (Astari Niagara), inkubator (Mettler), mikroskop (Olympus), seperangkat alat KLT.

### **Bahan**

Bakteri *Staphylococcus saprophyticus* dan *Shigella sonnei* yang diperoleh dari Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta, kulit kayu akway yang telah kering yang diperoleh dari kampung Ulong, distrik Anggi, kabupaten Manokwari, Papua, etanol 96% (teknis), etanol 70% (teknis), *aquadest*, media *Mueller Hinton* (MH) (Oxoid), *Brain Heart Infusion* (BHI) (Oxoid), *Kliger Iron Agar* (KIA) (Oxoid), *Lysine Iron Agar* (LIA) (Oxoid), *Motility Indole Ornithine* (MIO) (Oxoid), *Manitol Salt Agar* (MSA) (Oxoid), CMC Na 0,5%, NaCl 0,9% steril, cat Gram A, cat Gram B, cat Gram C, cat Gram D, silica gel GF<sub>254</sub> nm, fase

gerak n-heksan: kloroform: metanol (2,75 : 0,75 : 1,5) v/v, pereaksi semprot (sitroborat,  $\text{FeCl}_3$ , Dragendorff, anisaldehyd-asam sulfat pekat).

## **Jalannya Penelitian**

### Ekstraksi

Sebanyak 486 gram serbuk kulit kayu akway direndam dengan 3645 mL etanol, dimaserasi selama 3x24 jam, dan setiap 24 jam dilakukan penyaringan. Filtrat yang diperoleh disaring dengan corong *Buchner* dan dipekatkan dengan *vacuum rotary evaporator* dengan suhu 50°C, selanjutnya dihilangkan kadar airnya dengan penangas air hingga diperoleh ekstrak kental.

### Uji Aktivitas Antibakteri

Media MH yang telah dicairkan ditambah dengan larutan ekstrak (6%, 5,5%, 5%, 4,5%, 4% dan 3,5 %), dengan volume total masing-masing tabung sebanyak 4 mL, kemudian dihomogenkan. Selanjutnya dipadatkan dalam posisi miring dan ditambah 50  $\mu\text{L}$  suspensi bakteri ( $10^8$  CFU/mL), diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam.

### Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Sebanyak 2  $\mu\text{L}$  larutan sampel ditotolkan pada fase diam berupa plat silika GF<sub>254</sub> dan dielusi dengan fase gerak n-heksan: kloroform: metanol (2,75 : 0,75 : 1,5) v/v. Pemisahan diamati dengan lampu UV<sub>254</sub> nm dan UV<sub>366</sub> nm serta dengan pereaksi semprot anisaldehyd-asam sulfat pekat, sitroborat,  $\text{FeCl}_3$ , dan Dragendorff.

### Bioautografi

Plat hasil elusi ditempelkan pada media MH yang telah diinokulasi dengan 200  $\mu\text{L}$  bakteri kemudian didiamkan selama 20 menit, diberi tanda pada bagian bawahnya, lalu plat diangkat. Selanjutnya diinkubasi pada suhu 37° C selama 24 jam dan diamati zona jernih pada media.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Ekstraksi

Metode penyarian yang digunakan adalah maserasi. Metode ini banyak digunakan karena selain tekniknya sederhana, zat yang mengandung gugus-gugus yang tidak tahan terhadap panas atau mudah menguap tidak akan rusak atau menguap karena berlangsung pada kondisi dingin (Suarsa *et al.*, 2011). Ekstraksi dilakukan dengan menggunakan etanol 96%. Etanol 96% merupakan suatu campuran hidroalkohol yang merupakan kombinasi antara pelarut polar dan nonpolar sehingga memungkinkan terjadinya kombinasi yang fleksibel untuk dapat menyari berbagai macam senyawa kimia dari simplisia (Ansel, 1989). Proses maserasi dilakukan di dalam bejana tertutup dan terhindar dari cahaya agar senyawa-senyawa hasil dari maserasi tidak mengalami oksidasi. Selama proses maserasi perlu dilakukan pengadukan untuk menjaga keseimbangan konsentrasi larutan di dalam maupun di luar sel (Depkes RI, 1986). Dari berat awal simplisia 426,8 g diperoleh ekstrak dengan berat 68,96 g, sehingga rendemen yang dihasilkan adalah 16,2%.

### Uji Aktivitas Antibakteri

Uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol kulit kayu akway terhadap *Staphylococcus saprophyticus* dan *Shigella sonnei* dilakukan dengan metode dilusi padat. Parameter yang diamati dalam uji ini adalah KHM dan KBM. KHM adalah konsentrasi terendah yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri, sedangkan KBM adalah konsentrasi terendah yang dapat membunuh bakteri

Pengamatan hasil uji KHM menggunakan 3 kontrol, yaitu kontrol media, kontrol pertumbuhan dan kontrol *suspending agent* (CMC 0,5%). Kontrol media digunakan untuk mengetahui sterilitas media yang digunakan. Kontrol pertumbuhan digunakan untuk mengetahui apakah bakteri dapat tumbuh baik pada media atau tidak. Sedangkan kontrol *suspending agent* digunakan untuk memastikan bahwa pelarut yang digunakan tidak memiliki potensi sebagai antibakteri.

Menurut Mitscher *et al.*, (1972) *cit* Astuti *et al.*, (2002) ekstrak dikatakan poten sebagai antibakteri apabila dapat menghambat pertumbuhan bakteri dengan konsentrasi  $\leq 1000 \mu\text{g/mL}$  ( $\leq 0,1\%$  b/v). Hasil uji KHM dan KBM menunjukkan

bahwa ekstrak etanol kulit kayu akway tidak berpotensi sebagai antibakteri tapi memiliki aktivitas sebagai antibakteri dengan kadar minimal yang dapat menghambat pertumbuhan dan membunuh *Staphylococcus saprophyticus* berturut-turut adalah 4,5% dan 5,5% serta kadar minimal yang dapat menghambat pertumbuhan dan membunuh *Shigella sonnei* masing-masing adalah 5% dan 5,5%.

**Tabel 1. Penentuan KHM dan KBM Ekstrak Etanol Kulit Kayu Akway (*Drymis piperita* Hook. f.) terhadap *Staphylococcus saprophyticus* dan *Shigella sonnei* (n=3)**

Bakteri	KHM (%)	KBM (%)
<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	4,5	5,5
<i>Shigella sonnei</i>	5	5,5

Menurut Pratiwi (2008) suatu antibakteri dapat beraksi dengan cara merusak dinding sel, merusak membran plasma, menghambat sintesis protein, menghambat sintesis asam nukleat dan menghambat sintesis metabolit-metabolit penting pada bakteri. Hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa ekstrak etanol kulit kayu akway memiliki potensi yang sama terhadap *Staphylococcus saprophyticus* maupun *Shigella sonnei*. Secara teoritis bakteri Gram positif memiliki peptidoglikan yang lebih permeabel, interaksi antara antibakteri dengan bakteri akan semakin baik sehingga bakteri Gram positif lebih rentan terhadap antibakteri. Sedangkan bakteri Gram negatif memiliki lapisan peptidoglikan yang bersifat kurang permeabel sehingga efek suatu antibakteri menjadi lebih minimal (Adu *et al.*, 2011).

Hasil KBM menunjukkan nilai yang sama pada *Staphylococcus saprophyticus* maupun *Shigella sonnei*. *Staphylococcus saprophyticus* memiliki kekebalan yang sama terhadap ekstrak etanol kulit kayu akway dimungkinkan karena bakteri ini berbeda dari genus staphylococcus lain. *Staphylococcus saprophyticus* resisten terhadap novobiosin. Novobiosin merupakan antibiotik dengan mekanisme menghambat DNA girase (Dorman, 2011) dan menghambat sintesis dinding sel (Smith & Davis 1996). Mekanisme tersebut hampir sama dengan mekanisme aksi senyawa fenol (merusak dinding sel dan enzim-enzim pada bakteri) yang terkandung pada ekstrak etanol kulit kayu akway. Karena kesamaan mekanisme kerja antibakteri tersebut, maka kemungkinan pola



resistensi *Staphylococcus saprophyticus* terhadap novobiosin dan ekstrak etanol kulit kayu akway juga sama.

#### Kromatografi Lapis Tipis

Analisis kualitatif dilakukan untuk mengetahui golongan senyawa yang memiliki aktivitas sebagai antibakteri. Analisis kualitatif dilakukan dengan KLT. Metode kromatografi Lapis Tipis (KLT) digunakan untuk deteksi kualitatif dengan memisahkan senyawa-senyawa yang terkandung dalam ekstrak berdasarkan perbedaan polaritas. Metode ini merupakan metode yang banyak digunakan untuk mengidentifikasi senyawa dalam preparasi obat karena pengerjaannya singkat dan sederhana (Wagner & Bladt, 1996).

Fase gerak yang digunakan yaitu n-heksan: kloroform: metanol (2,75 : 0,75 : 1,5) v/v. Bercak yang diperoleh memiliki nilai Rf sebesar 0,8. Untuk mendeteksi bercak yang diperoleh digunakan pereaksi-pereaksi semprot yang spesifik, UV 254 nm dan UV 366 nm. Hasil deteksi bercak dengan pereaksi FeCl<sub>3</sub> dan diamati dengan sinar tampak terlihat warna biru pada Rf 0,8. Hal ini menunjukkan adanya fenol pada Rf 0,8. Pada Rf yang sama, deteksi dengan pereaksi anisaldehyd-asam sulfat pekat yang diamati dengan sinar tampak mengindikasikan adanya senyawa terpen ditunjukkan dengan adanya warna biru.

**Tabel 2. Hasil Uji KLT Ekstrak Etanol Kulit Kayu Akway (*Drymis piperita* Hook. F.)**

Deteksi	Hasil	Keterangan
Sitroborat (UV 366)	Bercak tidak terlihat kuning	Tidak terdeteksi adanya flavonoid
Dragendorff (sinar tampak)	Bercak tidak terlihat kuning atau hijau	Tidak terdeteksi adanya alkaloid
Anisaldehyd-asam sulfat pekat (sinar tampak)	Terlihat bercak biru	Terdeteksi adanya terpen
FeCl <sub>3</sub> (sinar tampak)	Terlihat bercak biru tua	Terdeteksi adanya fenol

#### Bioautografi

Bioautografi merupakan teknik yang spesifik untuk menentukan golongan senyawa pada ekstrak etanol kulit kayu akway yang memiliki aktivitas antibakteri dengan melihat adanya zona hambat dari bercak pada plat KLT. Hasil uji bioautografi menunjukkan adanya hambatan pertumbuhan bakteri pada Rf 0,8 baik pada *Staphylococcus saprophyticus* maupun pada *Shigella sonnei*.

Berdasarkan analisis KLT bercak dengan Rf 0,8 merupakan senyawa fenol dan terpenoid. Mekanisme fenol sebagai antibakteri adalah dengan merusak dinding sel dan merusak enzim-enzim pada bakteri (Mhaske *et al.*, 2012). Sedangkan terpen memiliki aktivitas sebagai antibakteri dengan mekanisme merusak membran sel (Sulea *et al.*, 2011).

Menurut Cepeda *et al.*, (2011) dalam tanaman akway senyawa yang berpotensi sebagai antibakteri baik bakteri Gram positif maupun bakteri Gram negatif adalah senyawa dari golongan terpen. Senyawa-senyawa tersebut adalah linalool, nerolidol,  $\alpha$ -pinen dan  $\beta$ -pinen. Linalool merupakan senyawa terpen alkohol, nerolidol merupakan suatu sesquiterpen dan  $\alpha$ -pinen dan  $\beta$ -pinen merupakan suatu monoterpen. Sedangkan untuk golongan fenol, senyawanya adalah 2,6-dimetoksifenol.

## KESIMPULAN

Ekstrak etanol kulit kayu akway memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus saprophyticus* dan *Shigella sonnei* dengan Kadar Bunuh Minimal 5,5%. Senyawa yang memiliki aktivitas sebagai antibakteri terhadap *Staphylococcus saprophyticus* dan *Shigella sonnei* dalam ekstrak etanol kulit kayu akway adalah fenol dan terpen.

## SARAN

Perlu dilakukan fraksinasi, isolasi senyawa-senyawa antibakteri yang terkandung serta optimasi fase gerak yang lebih maksimal terhadap ekstrak etanol kulit kayu akway (*Drymis piperita* Hook. F).

## DAFTAR PUSTAKA

- Adu, F., Gbedema, S.Y., Akanwariwiak, W. G., Annan K. & Boamah V.E., 2011, The Effects of *Acanthospermum Hispidum* Extract on The Antibacterial Activity Of Amoxicillin and Ciprofloxacin, *Hygeia Journal for Drugs and Medicines*, 3 (1), 2011, 58- 63.
- Angelini, M., Sthling, E. G., Moretti, M. L. & Silveira, W. D., 2009, Molecular Epidemiology Of *Shigella* SSP Strains Isolated in Two Different Metropolitan Areas of Southeast Brazil, *Brazilian Journal of Microbiology*, 40, 685-692.
- Ansel, H. C, 1989, *Pengantar Bentuk Sediaan Farmasi*, diterjemahkan oleh Ibrahim, F., Edisi IV, 616-617, Jakarta, Universitas Indonesia Press.

- Cepeda, G. N., Santoso, B. D., Lisangan, M. M. & Silamba, I., 2011, Komposisi Kimia Minyak Atsiri Daun akway, *Makara Sains*, 15 (1), 63-66.
- Depkes RI, 1986, *Sediaan Galenik*, 2-3, Jakarta, Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Dorman, J., 2011, Regulation of Transcription by DNA Supercoiling In Mycoplasma Genitalium: Global Control In The Smallest Known Self-Replicating Genomemmi, *Molecular Microbiology*, 81 (2), 302–304.
- Ismunandar, W., 2008, *Potensi Antibakteri Kulit Kayu dan Daun Tanaman Akway (Drymis Sp.) Dari Papua*, *Skripsi*, Program Studi Biokimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Institut Pertanian Bogor.
- Jamil, M., Labeda, I, & Bahar, B., 2009, Antibiotic Sensitivity Of Peritoneum Microbial Cultured From Peritonitis Patients At An Emergency Unit, *The Indonesian Journal of Medical Science*, 1 (5), 243-249.
- Mitscher, L. A., Leu, R. P., Bathala, M. S., Wu, W. & Beal J. L., 1972, Antimicrobial Agents from Higher Plants. I. Introduction, Rationale, and Methodology, *Lloydia*, 35 (2), 157-166, *cit*, Astuti, P., Pratiwi, S. U. T., Hertiani, T., Alam, G., Tahir, A. & Wahyuono, S., 2002, Marine sponge Jaspis sp., A Potential Bioactive Natural Source Against Infectious Diseases, *Berkala Ilmu kedokteran*, 34 (3).
- Nurokhim, A., 2001, Bakteriuria Pasca Pemasangan Kateter Menetap Pada Operasi Obstetri dan Ginekologi, *Tesis*, Fakultas Kedokteran, Universitas Diponegoro, Semarang.
- Pladio, L. P. & Villaseñor, I., 2004, Anti-Spasmodic Constituents from *Drymis piperita* Hook. F. Leaves, *Philippine Journal of Science*, 133 (1), 17-21.
- Pratiwi, S. T., 2008, *Mikrobiologi Farmasi*, Jakarta, Penerbit Erlangga.
- Mhaske, M., Samad, B. N., Jawade, R. & Bhansali, A., 2012, Chemical Agents in Control of Dental Plaque in Dentistry: An Overview of Current Knowledge and Future Challenges, *Pelagia Research Library*, 3 (1), 268-272.
- Rostinawati, T., 2010, Aktivitas Antimikroba Ekstrak Herba Tespong (*Oenanthe javavica* D.C.) terhadap *Escheriscia coli*, *Staphylococcus aureus* dan *Candida albicans*, *Laporan Penelitian*, Fakultas Farmasi Universitas Padjajaran.
- Smith, D. H. & Davis, B. D., 1996, Mode of Action of Novobiocin in *Escherichia coli*, *Journal of Bacteriology*, 93 (1), 71-79.

- Sugiharto, A. & Widawati, S., 2005, Pengaruh kompos dan Berbagai Pupuk Hayati Terhadap Pertumbuhan dan Hasil Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza*), *Jurnal Biologi Indonesia*, Volume 3 (9), 371-378.
- Suarsa, Suarya & Kurniawati, I., 2011, Optimasi Jenis Pelarut Dalam Ekstraksi Zat Warna Alam Dari Batang Pisang Kepok (*Musa Paradisiaca* L. Cv Kepok) Dan Batang Pisang Susu (*Musa Paradisiaca* L. Cv Susu), *Jurnal Kimia*, 5 (1), 72-80.
- Şulea, D., Micutz, M., Albu, M. G., Staicu, T., Leca, M., Popac, L. & Ghicac, M. V, 2011, Collagen-Thuja Tincture Biomaterials For Wound Treatment. 3. Hydrogels Containing Thuja Tincture And Chlorhexidine Digluconate, *Revue Roumaine de Chimie*, 56 (8), 811-817 .
- Sur, D., T., Ramamurti, Deen, J. & Battacharya, S. K., 2004, Shigellosis, Challenges and Mannagement Issues, *The Indian Journal of Medical Research*, 120, 454-562.
- Wagner, H. & Blatt, S., 1996, *Plant Drug Analysis: A Thin Layer Chromatography Atlas*, Second Ed., 350, Springer, New York.